

Apoptozis: Göz Hastalıklarındaki Yeri

APOPTOSIS: ITS PLACE IN EYE DISEASES

Özlem EVREN ABBASOĞLU*, Banu M. HOŞAL*

* Op.Dr., Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Göz Kliniği, ANKARA

Özet

Apoptozis programlı hücre ölümü olup, fizyolojik ve patolojik şartlar altında ortaya çıkmaktadır. Apoptozis sırasında hücrede DNA düzgün bir şekilde kırılır ve kondanse olur, organel ve hücre zarı bütünlüğü korunur ve çevre hücreler tarafından fagosite edilir. Apoptozis elektron mikroskopi, immünohistokimyasal işaretleme teknikleri, jel elektroforezi yöntemleri ile tespit edilebilir. Embryogenez ve doku hemostazi gibi fizyolojik durumlarda olduğu kadar, hücrenin iskemi, toksik etkenler, neoplazik değişikliklere maruz kaldığı patolojik durumlarda da ortaya çıkar. Apoptozis P53, Bcl-2, Rb ve c-fos gibi bazı onkogenler tarafından regüle edilir. Oftalmolojide retinoblastom oluşumu, retina dejenerasyonları, keratokonus ve glokom gibi pek çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Bu derlemede apoptozis mekanizması ve bunun göz hastalıklarındaki yeri tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Retinoblastom, Retinitis pigmentosa, Retinal iskemi, Keratokonus, Glokom

T Klin Oftalmoloji 2001, 10:115-120

Summary

Apoptosis is a form of programmed cell death which is evident under physiological and pathological conditions. During apoptosis DNA is uniformly fragmented and condensed, stability of cellular and organel membranes are preserved and the cell is phagocytized by neighbouring cells. Apoptosis can be detected by using electron microscopy, immune histochemical labeling techniques and gel electrophoresis. It is evident under physiological conditions like embryogenesis and tissue hemostasis as well as under pathological conditions like ischemia, presence of toxic factors and neoplastic changes. Apoptosis is regulated by oncogenes like p53, Bcl-2, Rb and c-fos. In ophthalmology, it plays role in pathogenesis of diseases like retinoblastoma, retinal degenerations, keratoconus and glaucoma. The mechanism of apoptosis and its role in eye diseases will be discussed in this review.

Key Words: Apoptosis, Retinoblastoma, Retinitis pigmentosa, Retinal ischemia, Keratoconus, Glaucoma

T Klin J Ophthalmol 2001, 10:115-120

Apoptozis hasta ve gerekmeyen hücrelerin, kontrollü ve aktif bir mekanizma ile çevre hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılma mekanizmasıdır. Yunanca bir terim olan apoptozis "düşmek, ayrılmak" anlamına gelir. Bu aktif hücre ölümü ilk kez Kerr tarafından 1972'de tanımlanmıştır (1). Apoptozis embriyogenezin, normal gelişmenin ve bazı hastalıkların progresyonunun önemli bir unsurudur. Hücrenin bir bakıma intiharı

Geliş Tarihi: 25.10.2000

Yazışma Adresi: Dr.Özlem EVREN ABBASOĞLU
Ankara Numune Eğitim ve
Araştırma Hastanesi
2. Göz Kliniği, ANKARA

anlamına gelir. Yakın zamanda apoptotik hücre ölümü glokom, retinitis pigmentosa, keratokonus ve retinoblastom gibi bir çok göz hastalığının patogenezinde tanımlanmıştır.

Apoptozis varlığını belirleyen 5 ana morfolojik aşama vardır. İlk olarak, hücreler mikrovillus ve kontakt bölgeleri gibi yüzey oluşumlarını kaybe-derler ve komşu hücrelerden ayrılmaya başlarlar. Daha sonra, hücre hacmi azalır ve organeller küçülerek hücre zarına bağlı cisimler oluştururlar (apoptotik cisimcikler). Bu aşamada organel bütünlükleri korunur. Bunu takiben, nükleer kromatin düzgün olarak parçalanır ve nükleer zarın altında yoğunlaşır. Son olarak, apoptotik hücre komşu hücreler tarafından fagosite edilir. Hücrelerin toplu şekilden ziyade tek tek ölmesi, ak-

tif protein sentezi gerektirmesi, fagositoz sırasında proteolitik enzimlerin ortama yayılmaması, hücre zarının ve organellerin bütünlüklerinin korunması ve inflamatuvar bir yanıt oluşmaması apoptozisi nekrozdan ayıran en önemli unsurlardır (2). Her ne kadar apoptozis fizyolojik durumlardaki hücre ölümü ise de bazı patolojik etkenlerle de gerçekleşebilir. Hücre bütünlüğünü bozup nekroz oluşturan her olay, eğer hücre hala yaşamaya devam edebiliyorsa apoptozisle sonuçlanabilir.

Apoptozisdeki Biyokimyasal Değişiklikler

Hücrede apoptozise yol açacak tek bir mekanizma yoktur. Ancak pek çok hücre tipinde erken apoptozisde sitoplazmada ionize kalsiyumun arttığı izlenmiştir (3). En önemli biyokimyasal özellik endojen endonükleaz enziminin aktivasyonu ve DNA'nın kırılması olayıdır. Enzim Ca^{++}/Mg^{++} bağımlı olduğu için enzimin aktivasyonu için hücre içi kalsiyumun artması gerekmektedir. Endonükleaz enzimi DNA'yı 200 baz çiftlik parçalara ayırır (4). Bu kırılmalar gel elektroforezde merdiven paterninin oluşmasına sebep olur (5). Nekrozda çok sayıda endonükleaz aktive olduğu için DNA düzensiz olarak parçalanır ve merdiven paterni oluşmaz.

Apoptozis sırasında transglutaminaz aktivitesi artar ve apoptoza giden hücrenin zarı değişikliğe uğrayarak proteolize rezistan hale gelir. Ayrıca hücre içi çapraz bağların artması ile hücre içeriği dışarıya çıkmaz ve inflamatuvar yanıt oluşmaz. Değişen zar yapısı çevre hücrelerin apoptotik hücreyi tanınmasına olanak verir ve bu hücreler fagosite edilir (6).

Apoptozisin varlığı elektron mikroskopi, agaroz jel elektroforez yöntemi, flow sitometri ve in situ işaretleme teknikleri ile belirlenebilir (3). Günümüzde en sık kullanılan in situ işaretleme teknikleri histokimyasal ve immünohistokimyasal prensipleri kullanır. TUNEL (terminal deoxyribonucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling) tekniğinde parçalanmış DNA kırıklarını tespit edilir (7). M30 fare monoklonal antikoları ile yapılan immün enzim köprü tekniği yeni tariflenmiştir ve henüz DNA parçalanmadan apoptoza gidecek hücreyi erken evrede gösterir (8).

Apoptozisi Uyarımlar Etkenler (9)

a. Hücre hasarı veya anormalliği: İskemi, toksik ajanlar, radyasyon, yaşlılık, neoplaziler.

b. Trofik faktörlerin geri çekilmesi: Büyüme faktörleri, nörotrofinlerin yokluğu apoptozise neden olur. Örneğin gelişim sırasında retinal ganglion hücreleri yaşayabilmek için nörotrofik faktörlere özellikle brain derived neurotrophic factor'a gereksinim duyarlar (10).

c. Eksternal aktivatörler: Bu gruptakiler diğerlerinden farklı olarak hücrelerde özellikle apoptozisi uyarırlar. Bunlar arasında glukokortikoidler, viral enfeksiyonlar sayılabilir. Örneğin tumor necrosis factor ya da interferonlar immün sistemde hücre apoptozisine sebep olurlar.

Apoptozisi Regüle Eden Genler

Apoptozise neden olan genler arasında c-myc, p53, Bax, Bad, Bcl-xs, c-Fos, c-Jun sayılabilir. Apoptozisi inhibe eden genler ise; Bcl-2, Bcl-xl, Mcl-1, c-Abl, ve Rb tümör suprese eden genlerdir. Özelliklerle hücre içi Bcl-2/Bax oranı hücrenin apoptozise gidip gitmeyeceğine karar vermede önemlidir. Bax fazla ise hücre apoptozise gider, Bcl-2 fazla ise apoptozis inhibe olur.

Göz Hastalıklarında Apoptozisin Yeri

Retinoblastom

İnsan hücreesindeki bazı genler aktive oldukları zaman hücreyi malign değişime götürmektedirler. Supresör onkogen olan retinoblastom geni ise (Rb) hücrenin bölünmesini engeller. Retinoblastom oluşumunda hücrenin kaderini belirleyen faktörler konusunda geniş çalışmalar vardır. Bu tümörler immatür retinoblastlarda olan retinoblastom genlerinin her iki alelinde de mutasyon olduğunda ve bu tümör oluşumu apoptozise götürecektir p 53 geninin fonksiyon bozukluğunda ortaya çıkmaktadır (11).

Tümör tedavisinde de apoptozisten faydalanılmaktadır. Radyoterapi, kemoterapi, hipertermi ve hormonal değişiklikler apoptozisi artırarak tümör dokunun yok edilmesine yardımcı olmaktadır (12).

Retina Dejenerasyonlarında Apoptozis

Retinitis pigmentozada fotoreseptörlerin apop-

tozis yoluyla kaybedildiğine dair hayvan çalışmaları mevcuttur (13). Yapılan çalışmalarda, RP ya benzer klinik tablo gösteren farelerin retinalarında fotoreseptör katmanında TUNEL pozitifliği, gel elektroforezde nükleozomal merdiven patterni ve morfolojik olarak apoptozisle uyumlu bulgular elde edilmiştir.

Fotoreseptörlerde apoptozisi başlatacak pek çok neden vardır. Bunlardan birisi anormal protein birikimidir. Doku kültürlerinde yapılan bir çalışmada, RP mutasyonlu insan rodopsin geninin fazla miktarda protein ürettiği ve bu durumun fotoreseptörde fonksiyon bozukluğuna ve apoptozise yol açtığı gösterilmiştir (14). Fotoreseptörleri apoptozise uğratan başka bir neden büyüme faktörlerinden yoksun kalmak olabilir. Faktorovich ve ark. fibroblast büyüme faktörünü fotoreseptör dejenerasyonlu ratlara subretinal olarak enjekte etmişler ve fotoreseptör dejenerasyonunun engellendiğini göstermişlerdir (15). Tedavi için umut verici olmakla beraber bir mitojen olan fibroblast büyüme faktörü, hücre çoğalmasını arttırmakta ve epiretinal membran oluşumuna sebep olmaktadır (15).

Büyüme faktörü dışında, gen tedavisi ile fotoreseptör apoptozisinin engellenmesine ait çalışmalar vardır. Transgenik fareler üzerinde yapılan ilk çalışmalar Bcl-2 geninin ekspresyonunun fotoreseptör dejenerasyonunu engellediği şeklindedir (16). Ancak daha sonraki çalışmalar bu durumun her tür RP için geçerli olmayabileceğini ve geçici olduğunu göstermiştir (17).

Bunların dışında fotoreseptörlerin apoptozisini engellemek için kalsium kanal blokörleri, dopaminerjik yola etkili ilaçlar denemiş ve sınırlı bir fayda gözlenmiştir (18,19).

Retinal İskemide Apoptozis

Geçici retinal iskemide, iç retina katlarında gecikmiş hücre ölümüne (GHÖ) sebep olmaktadır. GHÖ'nün hücre içine fazla kalsium girmesi, glutamat toksisitesi ve ortaya çıkan serbest radikaller sonucu olabileceği gösterilmiştir (20,21). Bazı çalışmalar geçici iskemide sonrası GHÖ'nün kısmen apoptozis yoluyla olduğunu göstermektedir. Rosenbaum ve arkadaşları endonükleaz inhibitörü olan aurintrikarboksilik asitin retinal iskemiden 6

saat sonra verilmesinde bile rat retina hücrelerinin iskemik hasar ve apoptozisten korunduğunu göstermiştir (22).

Retina Dekolmanında Apoptozis

Travmatik retina dekolmanı olan ve gözü alınan 75 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada %25 oranında retinada TUNEL pozitif işaretlenme izlenmiştir (23). Buna sebep olarak fotoreseptörlere mekanik hasar, kan dolaşımının bozulması, büyüme faktörlerinden yoksun kalma, RPE'nin ayrılması ve intravitreal, retinal ve subretinal hemorajinin toksik etkileri öne sürülmüştür.

Kornea Hastalıkları ve Apoptozis

Keratosit apoptozisinin kornea doku organizasyonunda, travmaya karşı yanıtta ve bazı hastalıkların pathogenezinde rol aldığı düşünülmektedir (24). Epitelin kazınması ön stromada yaygın bir keratosit apoptozisine sebep olmaktadır (25). Benzer şekilde epitelde mikrokeratom kesisi de keratosit apoptozisine yol açmaktadır (25). Çalışmalar epitel hasarı sonrasında keratosit apoptozisinin Fas-Fas ligand sistemi ile regüle edildiğini göstermektedir.

Korneada epitel hasarı sonrası keratositler apoptozise uğramaktadır. Bunların yerine aktif kollajen sentezleyen keratositler gelmektedir ve yara iyileşmesi yanıtı artmaktadır. Bu durum özellikle PRK sonrası regresyona sebep olmaktadır. PRK transepitelyal yapıldığında epitel lazer ile ablate edilirken aynı zamanda ortaya çıkan sitokinler de lazer ışınları tarafından parçalanmakta ve buna bağlı olarak keratosit apoptozisi anlamlı olarak az görülmektedir (25).

Keratosit apoptozisi kornea epitelinin herpes virüsü tarafından enfekte edilmesinden sonra da olmaktadır (26). Bu durum keratositleri geçici olarak ortadan kaldırmakta ve herpes virüsünün stromaya ve daha derin dokulara geçişini engellemektedir.

Keratokonus patogenezinde bugün için benimsenen hipotez artmış keratosit apoptozisini öngörmektedir (27). Buna göre, keratokonus korneada epitel-stroma ilişkisindeki keratosit proliferasyon ve apoptozis dengesinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Sistemin keratosit apoptozisinin artışı yönüne kayması zamanla stroma-



Şekil 1. Rat korneasından alınan kesitte yoğun şekilde apoptozis gösteren keratositler ve apoptozis gösteren bir yüzey epitel hücresi izlenmektedir. Apoptotik keratositler sitoplazmalarındaki kahverengi boyanma ile belirlenir. (M30 immünohistokimya, X 1550 büyütme) (E: Epitel)

da incelmelere yol açmaktadır. Daha önceden keratokonusa sebep olarak gösterilen iyi hareket göstermeyen sert kontakt lens kullanımı, göz ovması ve allerjik göz hastalıkları da kronik epitel hasarı yaparak keratosit apoptozisini arttırdıkları için keratokonusa sebep olabilirler (24).

Bunların dışında glokom ve pteryjium cerrahisinde kullanılan mitomisin-C'nin (MMC) kornea keratositlerinde apoptozise yol açtığı ve bu durumun işlemten sonra MMC uygulanan bölgeyi yıkayarak azaldığı gösterilmiştir (Abbasoğlu ÖE, Hoşal BM, Gürsel E, Ayhan A: Mitomisin-C'nin kornea üzerindeki apoptotik etkisi. Türk Oftalmoloji Derneği, XXXIV. Ulusal Kongresi Bülteni, 2000. Sayfa 92; Şekil 1). MMC'ye bağlı keratosit apoptozisinin MMC sonrası bildirilen kornea ve

sklera erimelerinin sebebi olabileceği düşünülmektedir.

Glokom ve Diğer Optik Nöropatilerde Apoptozis

Glokoma bağlı nöropatide ganglion hücresinin apoptozisinin olduğunu gösteren rat çalışmaları vardır (28). Bunun dışında Levin ve ark. iskemik optik nöropatili bir hastanın optik sinirini incelemişler ve ganglion hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü tespit etmişlerdir (29).

Oldukça fazla stimulus ganglion hücresinde apoptozise neden olabilir. Glokomda antegrad ve retrograd akzoplazmik akımın azalması ya da durması buna sebep olabilir (9). Böyle bir azalma büyüme faktörlerinin ganglion hücresine girişini engelleyebilir. Ekzojen Brain Derived Growth Factor'ün intraoküler verilmesi, optik sinir kesisi sonrasında ganglion hücrelerinin hayatta kalma zamanını arttırmıştır (30). Ayrıca iskemi ve glutamat gibi bazı eksitotoksinlerin ortamda oluşu apoptozise neden olabilir. Buna paralel olarak Dreyer ve arkadaşları glokomlu hastaların vitreusunda glutamatın artmış oranda olduğunu göstermişlerdir (31). Hücre kültüründe, glutamatın, glokomdakine benzer şekilde selektif olarak büyük ganglion hücrelerinde ölüme yol açması bu hipotezleri desteklemektedir (32).

Kuru Göz ve Apoptozis

Kuru göz etiyolojisinin multifaktöryel olduğuna inanılmaktadır. Apoptozis otoimmün bir hastalık olan Sjögren sendromunun patogenezinde rol almaktadır. Kuru gözlü köpeklerde yapılan çalışmada lakrimal beze infiltre olan lenfositlerde azalmış apoptozis ve buna bağlı olarak yoğun proliferasyon izlenmiştir (33). Buna karşılık lakrimal asinar hücrelerde ve konjonktiva epitelinde, lenfositte-bağımlı, artmış apoptozis varlığı tespit edilmiştir. Siklosporin A kullanımının lenfositlerdeki apoptozisi artırırken, asinar hücrelerdeki apoptozisi azalttığı ve böylece kuru göz tedavisinde yeri olabileceği öne sürülmektedir (34).

Üveitler ve Apoptozis

Apoptozisin otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada Behçet hastalığı, sarkoidoz, sem-

patik oftalmi, multifokal koroidit ve Vogt Koyanagi Harada hastalığı olan hastalardan alınan korioretinal biyopsiler incelendiğinde bu hastaların retina, korioretinal skar ve granülomlarında artmış Fas veya Fas ligand tespit edilmiştir (35). Fas ve Fas ligand ekspresyonu apoptozise yol açmaktadır. Normalde üveit durumunda artmış olan lenfosit apoptozisi (Fas-Fas liganda bağımlı) üveitin rezolüsyonuna yardımcı olmaktadır. Ancak bu sistemin regülasyon bozukluğu fibrozis ve gliozise sebep olmaktadır.

Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonu (YBMD) ve Apoptozis

YBMD erken döneminde retina pigment epitelinde metabolize olmayan materyalin birikimi bu hücrelerin apoptozisine sebep olmaktadır. Apoptotik RPE hücrelerinin parçaları Bruch membranında birikmekte ve sert drusen oluşmaktadır (9). Ayrıca YBMD sonucu gelişen koroidal neovasküler membranlar incelendiğinde, vaskülarizasyonu fazla olan membranlarda RPE hücreleri ve endotel hücrelerinde fazla miktarda apoptozis görülürken, fibrotik membranlarda daha az miktarda apoptozis izlenmiştir. Apoptozisle RPE hücrelerinin kaybı ortamdaki anjiyojenik faktörlerin azalmasına neden olmakta ve membranlar fibrotik bir yapı kazanmaktadır (36).

Sonuç olarak, apoptozis oftalmolojide bir çok hastalığın etiyopatogenezinde yer almaktadır. Bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılması gelecekte bu hastalıklara karşı yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde rol oynayabilir.

KAYNAKLAR

- Kerr JFR, Willie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26:239-257.
- Bosman FT, Visser BC, Oeveren JV. Apoptosis: Pathophysiology of programmed cell death. *Path Res Pract*. 1996; 192, 676-683.
- Staunton MJ, Gaffney G. Apoptosis. Basic concepts and potential significance in human cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 1998;122: 310-9.
- Arends MJ, Morris RG, Wyllie AH. Apoptosis, the role of endonuclease. *Am J pathol*. 1990; 136: 593-608.
- Carson DA, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. *The Lancet*. 1993; 341: 1251-4.
- Melino G, Annicchiarico-Petruzzelli M, Piedda L et al. Tissue transglutaminase and apoptosis: sense and antisense transfection studies with human neuroblastoma cells. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 6584-96.
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*. 1992;119:493-501.
- Caulin C, Salvesen GS, Oshima G. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *J Cell Biol*. 1997; 138:1379-94.
- Nickells RW, Zack DJ. Apoptosis in ocular disease: a molecular review. *Ophthalmic Genetics* 1996; 17: 145-65.
- Johnson JE, Barde Y-A, Schwab M, Thoenen H. Brain-derived neurotrophic factor supports the survival of cultured rat retinal ganglion cells. *J Neurosci* 1986;6:3031-8.
- Hamel PA, Philips RA, Muncaster M, Gallie BL. Speculations on the roles of RB in tissue-specific differentiation, tumor initiation, and tumor progression. *FASEB J* 1993; 6;846-54.
- Tatlıpınar S, Kıratlı H. Apoptozis ve göz. *T Oft Gaz*. 2000; 30: 587-91.
- Portera-Cailliau C, Sung C-H, Nathans J, Adler R. Apoptotic photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 974-8.
- Sung C-H, Schneider BG, Agarwal N, Papermaster DS, Nathans J. Functional heterogeneity of mutant rhodopsins responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88;8840-4.
- Faktorovich EG, Steinberg RH, Yasumura D, Matthes MT, LaVail MM. Photoreceptor degeneration in inherited retinal dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature*. 1990; 347: 83-6.
- Chen J, Flannery JG, LaVail MM, Steinberg RH, Xu J, Simon MI. Bcl-2 overexpression reduces apoptotic photoreceptor cell death in three different retinal degenerations. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1996; 93: 7042-7.
- Tsang SH, Chen J, Kjeldbye H. et al. Retarding photoreceptor degeneration in Pdegtm1/Pdegtm1 mice by an apoptosis suppressor gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38: 943-50.
- Sahly I, Bar Nachum S, Suss Toby E et al. Calcium channel blockers inhibit retinal degeneration in the retinal-degeneration-B mutant of Drosophila. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1992; 89: 435-9.
- Bubenik GA, Purtill RA. The role of melatonin and dopamine in retinal physiology. *Can J Physiol Pharmacol*. 1980; 58: 1457-62.
- Mosinger JL, Price MT, Bai HY, Yiao H, Wozniuk DF, Olney JW. Blockage of both NMDA and non-NMDA receptors is required for optimal protection against ischemic neuronal degeneration in the in vivo adult mammalian retina. *Exp Neurol*. 1991; 113: 10-7.
- Szabo ME, Droy-LeFair MT, Doly M, Carre C, Braquet P. Ischemia and reperfusion induced histologic changes in the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991; 32: 1471-8.

22. Rosenbaum DM, Rosenbaum PS, Gupta A, Michaelson MD, Hall DH, Kessler JA. Retinal ischemia leads to apoptosis which is ameliorated by aurintricarboxylic acid. *Vision Res.* 1997; 24: 3445-51.
23. Chang CJ, Lai WW, Edward DP, Tso MOM. Apoptotic photoreceptor cell death after traumatic retinal detachment in humans. *Arch Ophthalmol.* 1995; 113: 880-6.
24. Wilson SE, Kim WJ. Keratocyte apoptosis: Implications on corneal wound healing, tissue organization and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39:220-6.
25. Helena MC, Baerveldt F, Kim W-J, Wilson SE. Keratocyte apoptosis following corneal surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39: 276-83.
26. Wilson SE, Pedroza L, Beuerman R, Hill JM. Herpes Simplex virus type 1 infection of corneal epithelial cells induces apoptosis of underlying keratocytes. *Exp Eye Res.* 1997; 64: 775-9.
27. Wilson SE, He Y-G, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, Chwang EL. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res.* 1996; 62: 325-38.
28. Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res.* 1995; 61: 33-44.
29. Levin LA, Louhab A. Apoptosis of retinal ganglion cells in anterior ischemic optic neuropathy. *Arch Ophthalmol.* 1996; 114: 488-91.
30. Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang Y-C, Bray GM, Aguayo AJ. Effects of ocular injury and administration of brain derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994, 91: 1632-6.
31. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1996; 114: 299-305.
32. Dreyer EB, Pan ZH, Storm S, Lipton SA. Greater sensitivity of larger retinal ganglion cells to NMDA-mediated cell death. *Neuroreport* 1994; 5: 629-31.
33. Gao J, Schwalb TA, Addeo JV, Ghosn CR, Stern ME. The role of apoptosis in pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: The effect of topical cyclosporin A therapy. *Cornea.* 1998; 17: 654-63.
34. Tsubota K, Fujita H, Tadano K, Takeuchi T, Murakami T, Saito I, Hayashi Y. Improvement of lacrimal function by topical application of CyA in murine models of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42: 101-10.
35. Chan CC, Matteson DM, Li Q, Whitcup SM, Nussenblatt RB. Apoptosis in patients with posterior uveitis. *Arch Ophthalmol* 1997; 115: 1559-67.
36. Hinton DR, He S, Lopez PF. Apoptosis in surgically excised choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:203-9.